第 24 卷 第 4 期　　昆 虫 学 报　　Vol. 24, No. 4
1981 年 11 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Nov., 1981

大尺蠖核型多角体病毒的研究

甘 运 凯
（湖南省微生物研究所）

摘要　1977 年从湖南省网岭茶园内罹病大尺蠖幼虫中分离获得大尺蠖核型多角体病毒。多角体近圆形、菱形、三角形或六方形，大小约 1.2—3.6 微米。电镜下观察病毒粒子为杆状(49—63 毫微米 ×251—282 毫微米)。属杆状病毒科 (*Baculoviridae*) 杆状病毒属 (*Baculovirus*) A亚组 (Subgroup A)。

对 4—5 龄大尺蠖室内口服的致死中浓度 (LC_{50}):4 天为 $10^{-4.497}$ (787 个多角体)，9 天为 $10^{-5.0}$ (243 个多角体)，11 天为 $10^{-6.521}$ (7 个多角体)。不同感染方法感染 3—4 龄幼虫，其致病力不同。大田防治杀虫效果达 98%，并有后效作用。

大尺蠖 (*Buzura suppressaria* Guenée) 又名油桐尺蠖，为分布较广的杂食性害虫，为害茶叶、油桐、漆树、乌桕、桃、李及柑桔等。在湖南茶园内一年发生二代，有时暴发成灾。1977 年 10 月在湖南网岭茶园发现自然罹病死亡的大尺蠖，从中分离出核型多角体病毒。

国内有人进行了大尺蠖核型多角体病毒粒子的初步观察（朱国凯，1979)，但其它方面尚少报道。3 年来我们进行了病毒学及室内、外感染试验。本文报告研究结果。

材 料 与 方 法

一、材料　大尺蠖核型多角体病毒系从罹病死虫体内分离获得。感染试验用初步提纯的多角体，大田试验用幼虫尸体的匀浆液。

试验幼虫采自茶园，室内饲养观察后用于试验。

二、方法

1. 多角体的分离　感病死亡的大尺蠖置组织研磨器中研磨过滤，500 转/分离心，取上清液再经 3,000—4,000 转/分离心 30 分钟，洗涤数次，即可获得较纯的多角体。用血球计数法测数。置冰箱保存备用。

2. 多角体的检查　将提纯的多角体、病虫的血淋巴及组织块，进行涂片或压片，用什维佐娃法染色及镜检（陈常铭，1955)。

3. 病毒粒子的分离　提纯的多角体用无菌水洗两次，取 1 克湿品加 4 毫升 0.01*M* 碳酸钠和 1 毫升 0.05*M* 氯化钠溶液，置 25—30℃ 温箱 2—5 小时，离心（3000 转/分）取上清液，再经 8000 转/分冷冻离心 30 分钟，去沉淀，留上清液，置 −18℃ 低温冰箱保存。

4. 化学药剂对多角体的溶解试验　将巴丹、乙醚等 15 种化学药剂用无菌水稀释一定倍数，分别取 1 毫升。加入 1 毫升多角体悬液，充分混匀，置 0—4℃ 冰箱，1.5 小时及 68 小时后，镜检多角体是否溶解，并测 pH 值。

5. 室内感染试验

本文于 1979 年 9 月收到。
本所鲁迎新同志参加了部分工作。武汉大学病毒系电镜室胡远扬同志协助拍照，特此致谢。

（1）致死中浓度（LC_{50}）的测定　用提纯的大尺蠖 NPV*（含243.373 亿 PIB/毫升），感染 4—5 龄幼虫，按不同稀释倍数分 8 组单虫饲养。喂前停食半天，用微量注射器滴喂病毒液 1 微升，喂后对吐胃液的虫弃之不用。死虫均作涂片染色镜检。按 Reed 氏和 Muench 氏(1938) 50% 致死量的计算方法求 LC_{50}。

（2）不同龄期对 NPV 的敏感性测定　用大尺蠖 NPV 感染 3 龄、4 龄、5—6 龄幼虫，每组 10—20 头，每头滴喂 0.5 微升（3.6 万及 1.8 万 PIB），观察 12 天，死虫及活虫均作镜检，组织及血淋巴内有多角体者为阳性。

（3）不同感染方法对致病力的影响　把制备好的病毒粒子及多角体，稀释为 10^{-2}—10^{-6} 浓度，感染 2—5 龄幼虫，给药方法为腹足前侧微量注射或滴喂，观察两种感染途径的致病情况。

（4）化学药剂与多角体混用试验　每组用 3—5 龄幼虫 15 头，每头滴喂混合液 1 微升，每微升混合液除含多角体 722 万个外，尚分别含有下列药品：硫酸铜 60 微克，过磷酸钙 50 微克，敌敌畏（50%）10 微克，硫酸亚铁 60 微克，尿素 50 微克，明矾 60 微克。水为对照。

6. 大田防治试验

试验在湖南省网岭茶园进行，试验面积为 16 亩（普杀）及 200 亩（点杀），邻近的茶区为对照区。普杀使用超低量喷雾，病毒浓度为 12 亿 PIB/毫升，喷时加 1% 活性炭。点杀使用背包式喷雾器，病毒浓度为 0.13 亿 PIB/毫升加 1% 墨汁。定点观察结果。

1979 年 5—6 月进行了室内及 4 亩茶园的病毒杀虫试验，并与化学农药进行比较，使用浓度见表 1**。

表 1　NPV 及化学药剂杀虫试验的使用浓度

药剂名称	室内使用浓度	茶园使用浓度	备　注
NPV	10 亿 PIB/ml	3000 亿 PIB/亩	1) 0.5 亩茶园面积兑水量为 1,700 毫升; 2)NPV 处理组加 1% 活性炭; 3) 使用超低量喷雾器，分两次施药。
NPV 硫酸铜	10 亿 PIB/ml 稀释 2000 倍	3000 亿 PIB/亩 2.2 克/亩	
敌敌畏	稀释 1000 倍	240 克/亩	
水(对照)			

结果和讨论

一、多角体的形态、大小及数量

在光学显微镜下，大尺蠖多角体的大小形态不一，折光性强，呈近圆形、三角形、菱形、

* NPV 为核型多角体病毒，PIB 为多角体。

** 本所李秋云、鲁迎新、张松柳、贺衡萍及朱邦雄等同志参加了部分工作。

方形及六方形等(图版 I:1)。

用1%的氢氧化钠水溶液处理多角体，1分钟后可见多角体不断消失。

随机测定79个多角体，其大小为1.2—3.6μ。

对17头4—5龄自然罹病死亡虫体内的多角体进行测数，每头死虫平均产生227.25亿个多角体，每克干虫平均含多角体332.36亿个。

二、病毒粒子的形态

病毒粒子为杆状，平均大小为49—63毫微米×251—282毫微米，两端钝圆，一端有一小突起，长约10毫微米(图版 I:2)。

多角体内还有许多球状体及V形体。

三、化学药剂溶解多角体的结果

15种化学药剂(巴丹、西维因、杀虫醚、马拉硫磷、滴滴涕、敌敌畏、乐果、新洁尔灭、来苏尔、乙醇、甲醛、乙醚、氯仿、二甲苯、氢氧化钠)仅有氢氧化钠能溶解多角体，对其生理活性的影响尚待进一步观察。

四、感染试验

1. 感染后的症状及病理

大尺蠖幼虫罹病后食欲减退并呕吐，行动迟钝，发育减慢。5—10天内为死亡高峰，以尾足倒挂于枝叶或吊在丝上死亡。表皮变色显著，轻触易破，流出褐乳色脓汁，无臭气。5—6龄幼虫感染后，多数体节缩短，不蜕皮，不化蛹而死亡。症状较轻者虽能化蛹，但在蛹期死亡；有的化成畸蛹后死亡。

罹病后期的幼虫血淋巴液混浊，含有大量的多角体，镜检能看到血细胞核显著膨胀，核内充满多角体，有的核膜破裂，放出多角体(图版 I:3)。气管基质细胞核中也充满多角体。

2. 致死中浓度 LC_{50} 的测定

感染后分别求出4天、9天及11天的致死中浓度，并计算出感染 LC_{50} 的多角体数，以及死亡百分率的机率值(图1)，并计算直线迴归方程。

4天的致死中浓度为 $10^{-4.497}$，即787个PIB;

9天的致死中浓度为 $10^{-5.0}$，即243个PIB;

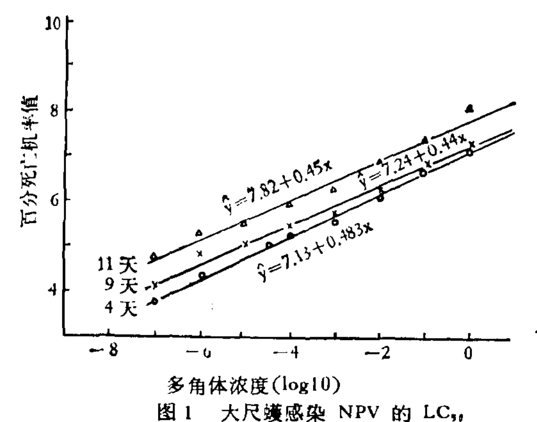
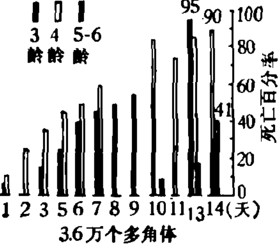


图1 大尺蠖感染 NPV 的 LC_{50}



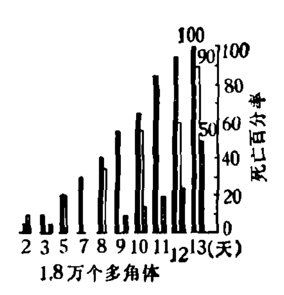


图2 不同虫龄对 NPV 的敏感性

11 天的致死中浓度为 $10^{-6.521}$，即 7 个 PIB；

从上结果可以看出接种病毒的浓度高时，潜伏期短，浓度低时，潜伏期相应延长。

3. 不同虫龄对 NPV 敏感性的测定

试验结果表明：5—6 龄幼虫有一定的耐受性，累积死亡率为 41.3—50%，而 3.4 龄幼虫的累积死亡率达到 90% 以上。同时 3.4 龄幼虫的 50% 死亡率比 5.6 龄幼虫的 50% 死亡率提早 3—7 天出现（图 2）。

喂食 3.6 万个 PIB 与 1.8 万个 PIB 对各龄幼虫的致病力差别不大。

4. 不同感染方法对致病力的影响

病毒粒子以注射及滴喂两种方法感染大尺蠖，均能使其染病致死，死亡率为 97—98%。其直线迴归方程：微量注射组直线迴归方程 $\hat{y} = 2.542 + 4.811x$；微量滴喂组直线迴归方程 $\hat{y} = 3.08 + 3.354x$。前者比后者死亡快，注射者第 8 天死亡率为 97%，滴喂者需 13 天死亡率才达到 97%（图 3），这可能由于消化道中有某种抑制病毒的物质或屏障所致（有贺久雄，1973）；也可能是病毒粒子在幼虫肠道内有一段侵染与增殖的过程，因而延长了死亡的时间。

微量滴喂多角体组的死亡率达到 100%，其直线迴归方程为 $\hat{y} = 4.702 + 3.992x$。但注射多角体则不能引起幼虫感染致病（图 3），与有贺久雄（1973）报道的家蚕 NPV 的多角体在体液中不溶解的结果相似。

图 3 病毒粒子与多角体的不同感染方法

○——○ 滴喂病毒粒子 ○----○ 注射病毒粒子
△——△ 滴喂多角体 △----△ 注射多角体
●——● 滴喂水（对照）

5. 化学药剂与 NPV 的混用试验

试验结果表明，与硫酸铜混用杀虫效果最好，6 天全部死亡；尿素次之，10 天死亡率为 100%；与敌敌畏，过磷酸钙及硫酸亚铁混用效果不如对照（表 2）。茶园内使用硫酸铜可兼治病菌，使用尿素也具有叶面施肥的作用。

五、大田防治效果

普杀试验区罩笼定点观察结果见图 4，第 1 天开始死亡，第 12 天死亡率为 51.7%，23 天为 98.3%，病虫不蜕皮，发育缓慢。5、6 龄幼虫感染后虫体萎缩，不化蛹而死亡。

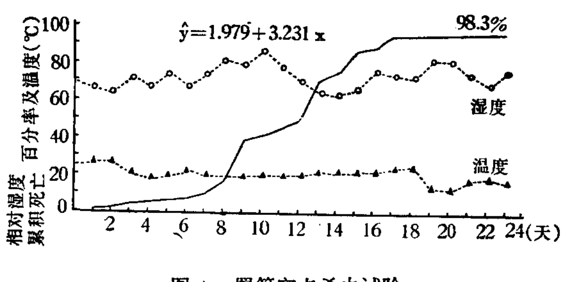


图 4 罩笼定点杀虫试验

点杀试验区定点观察见图 5。第 8 天发现死虫，10—11 天内死虫出现高峰（55.7%），以后死虫逐渐减少，有较长的潜伏期（与 NPV 的浓度有关）和再次感染的现象，直到 32 天才全部死亡。在 50 米长的茶树地段，共观察到 309 头 3—6 龄大尺蠖，死亡率为 98.4%。挖到 5 只蛹，化蛹率为 1.6%。非定点对照区 50 米长茶树地段共挖到蛹 18 只，为试验区的 3.6 倍。

表 2 化学药剂与 NPV 混用试验结果

组别	虫数	天数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
硫酸铜与 NPV	15	累积死虫数	1	0	9	12	14	15					
		死亡百分率(%)	6.6		60	80	93.3	100					
硫酸亚铁与 NPV	15	累积死虫数	1	2	0	5	7	8	11				
		死亡百分率(%)	6.6	13.3		33.3	46.6	53.3	73.3				
过磷酸钙与 NPV	15	累积死虫数		1	0	3	4	5	7	0	9		
		死亡百分率(%)		6.6		20	26.6	33.3	46.6		60		
尿素与 NPV	15	累积死虫数		1	0	5	7	13	0	0	0	15	
		死亡百分率(%)		6.6		33.3	46.6	86.6				100	
敌敌畏与 NPV	15	累积死虫数		1	2	4	6	9	10	0	0	0	12
		死亡百分率(%)		6.6	13.3	26.6	40	60	66.6				80
明矾与 NPV	15	累积死虫数		2	0	0	5	7					
		死亡百分率(%)		13.3			33.3	46.6					
水与 NPV(对照)	15	累积死虫数		4	9	13							
		死亡百分率(%)		26.6	60	86.6							

普杀第一代大尺蠖后，第二代大尺蠖发生时（9—11 月）试验区很难找到大尺蠖。个别茶树上有 1—2 龄的幼虫，几天后也全部消失。这种现象值得注意，可能是使用了大尺蠖 NPV 之后产生的后效作用。

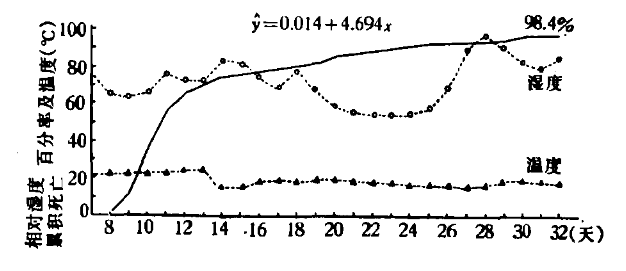


图 5 无罩笼定点杀虫试验

1979 年 5—6 月的室内杀虫试验见表 3，NPV 组的校正死亡率为 100%，较敌敌畏组与对照组的校正死亡率(99.19% 及 16.94%)高。若把 NPV 组总虫数减去非 NPV 的死虫数，敌敌畏组总虫数减去感染 NPV 的死虫数，然后计算校正死亡率，NPV 组仍为 100%，敌敌畏组为 99.19%，仍可看出施用 NPV 的杀虫效果高于敌敌

表 3 室内杀虫效果试验（5 月 27 日—6 月 2—8 日）

组别	试验虫数(头)	试验结果						
		NPV 死虫		非 NPV 死虫		死虫总数	死亡百分率(%)	校正死亡百分率(%)
		死虫数	百分率(%)	死虫数	百分率(%)			
NPV	156	137	87.82	19	12.17	156	100	100
NPV 硫酸铜	133	94	70.67	39	29.32	133	100	100
敌敌畏	150	7	4.67	142	94.67	149	99.33	99.19
对照	177	17	9.6	13	7.34	30	16.94	

畏。

茶园杀虫试验见表 4。使用 NPV 的两组死亡率为 98.97% 及 99.80%，敌敌畏组为 77.55%，对照组虫口上升 36.16%。经生物统计分析 NPV 组与敌敌畏组的死亡率有明显差异。试验结束后，继续观察其扩散作用。敌敌畏组及对照组周围的保护区内大尺蠖陆续感染 NPV 病全部死亡，证明 NPV 有扩散作用。

表 4　茶园杀虫试验（5 月 24 日—6 月 6 日）

组　别	试验前活虫数（头/亩）	试验结果		
		活虫数(头/亩)	死虫百分率(%)	校正死亡率(%)
NPV	38671	533	98.61	98.97
NPV 硫酸铜	73,609	186	99.74	99.80
敌敌畏	19,202	5,867	69.44	77.56
对照	19,000	25,870	−36.15	

参　考　文　献

中国农业科学院茶叶研究所　1973　茶树病虫防治。农业出版社。12—3 页。

朱弘复等　1975　蛾类图册。科学出版社。116 页。

朱国凯等　1979　大尺蠖杆状病毒粒子的观察。科学通报 **24**(8)：372—3。

有贺久雄　1973　《蚕丝科学和技术》日本蚕病研究动态(江苏省蚕业研究所译) 31—41。

陈常铭等译　1955　研究昆虫疾病及应用微生物学方法保护植物指南。科学出版社。42 页。

Fenner, F. 1976 Classification and Nomenclature of Viruses. Second Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology.*, **7**:1-116.

Reed, C. J. and H. Muench 1938 A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Amer. J. Hyg.*, **27**: 493.

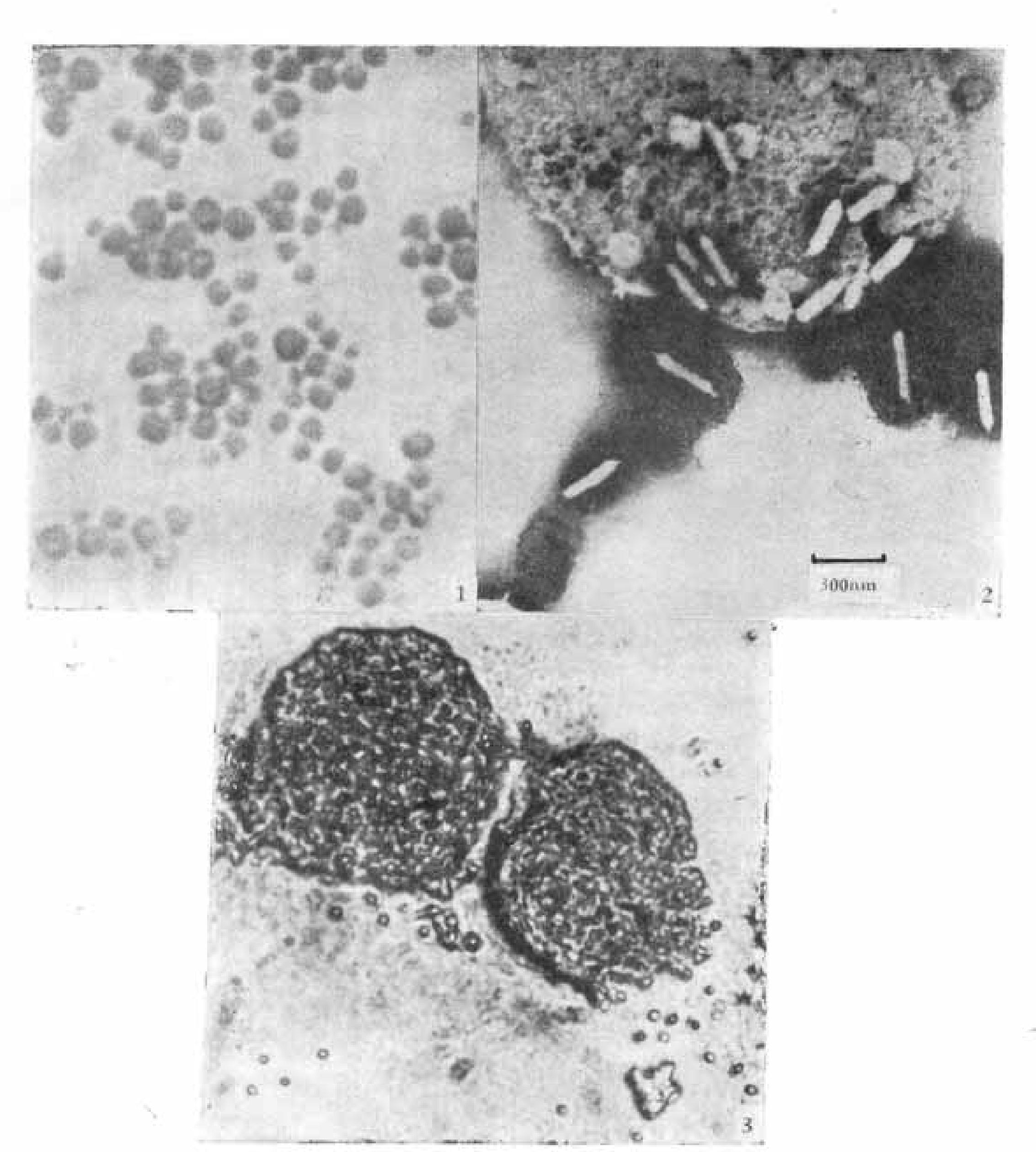
STUDIES ON THE NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS OF *BUZURA SUPPRESSARIA*

GAN YUN-KAI
(*Hunan Institute of Microbiology*)

In 1977 this nuclear polyhedrosis virus was isolated from the dead larvae of *Buzura suppressaria* Guenée in the tea garden of Wang Ling, Hunan. Under ordinary and phase contrast microscopes the polyhedra were seen as nearly rounded, rhombic, trigonal and hexangular particles and 1.2 to 3.6 μ in size. Under the electron microscope, the viron rods liberated from the polyhedra in 0.01 M Na_2CO_3 and 0.05 NaCl measured 49—63 nm by 251—282 nm. This virus belongs to subgroup A of Baculovirus.

Oral administration of the virus on leaves by the larvae of the fourth and fifth instars showed the medium lethal concentration (LC_{50}) to be $10^{-4.497}$ (787 PIB) on the fourth day, $10^{-5.0}$ (243 PIB) on the nineth day, and $10^{-6.251}$ (7 PIB) on the eleventh day. Young larvae were more susceptible to the virus and different routes of virus infection caused different mortality rate.

Field test showed the mortality rate of the larvae may reach 98% after spraying with the polyhedral suspension and some infective effect on the later generations may appear.



1．大尺蠖核型多角体病毒的多角体
2．大尺蠖 NPV 病毒粒子及多角体内的球状体与V形体
3．大尺蠖感染 NPV 后，血细胞核内充满多角体；核膜破裂后放出多角体